维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)06-0818-03

阿霉素诱导兔扩张型心肌病模型的建立

白永虹[1],沈 兴[2],余更生[2],田 杰[2],朱 静[3]

(重庆医科大学附属儿童医院:1 超声室;2 心血管内科;3 儿科研究所,重庆 400012)

【摘 要】目的:探讨阿霉素诱导兔扩张型心肌病模型的可行性。方法:26 只兔经耳缘静脉注射阿霉素 1mg/(kg·次)×2 次/周×8 周,用药结束后 3 周通过彩色超声心动图及病理检查对模型进行评估。结果:存活 17 只动物,与用药前相比其左室舒张末期内径(LVEDD)及收缩末期内径(LVESD)增大,射血分数(LVEF)及短轴缩短率(LVFS)减低,差别有显著意义($P<0.05$),病理检查符合心肌病样改变。结论:通过反复多次注射小剂量阿霉素可成功建立兔扩张性心肌病模型,其病理生理改变与人类临床相符。

【关键词】阿霉素;扩张性心肌病;兔;模型

【中国图书分类法分类号】R-332;R542.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-04-21

Establishment of adriamycin-induced dilated cardiomyopathy model in rabbits

BAI Yonghong, et al

(*Department of Cardiology, the Children's Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To explore the feasibility of adriamycin-induced dilated cardiomyopathy model in rabbits. *Methods*: 26 rabbits were given 1mg.kg-1 body wt. of adriamycin intravenously twice a week for 8 weeks, then received echocardiography and histoligical examination after 3 weeks of final injection. *Results*: 17 rabbits survived. Compared to the baseline station, the value for the Left ventricular diastolic dimension (LVEDD) and the Left ventricular systolic dimension (LVESD) increased significantly, while the value for the Left ventricular ejection fraction (LVEF) and the Left ventricular short fraction (LVFS) decreased significantly after treated with adriamycin ($P<0.05$). Pathological examination demonstrated the change in myocardium of the treated rabbits consisted with the dilated cardiomyopathy in human patients. *Conclusions*: Intravenous injection of adriamycin can be used to induce dilated cardiomyopathy model in rabbits, and its physiopathologic characteristic closely resembles the human condition.

【Key words】Adriamycin; Dilated cardiomyopathy; Rabbit; Model

扩张型心肌病 (Dilated Cardiomyopathy, DCM) 是一类原因不明性疾病,以心脏扩大(左心室和/或右心室)、心力衰竭、心律失常和栓塞为基本特征。年发病率约(6~10)/10 万人口,占各类心脏疾病发病率的第四至第五位,且有逐年上升的趋势,成为威胁人类健康的主要心血管疾病之一。由于其病因及发病机制不清,目前治疗主要依靠对症处理,故预后往往不佳。因此对 DCM 的研究需要一种具有与其类似的病理生理改变,尤其是具有类似严重血流动力学障碍的动物模型。本试验将探讨阿霉素 (Adriamycin, ADR)诱导兔 DCM 模型的可行性。

作者介绍:白永虹(1963-),女,主管技师,主要研究方向:心脏超声诊断。

基金项目:重庆市科委资助基金(No:渝科发计字[2003]43-92)。

1 材料和方法

1.1 实验材料

新西兰白兔 26 只,体重 3.0~3.5kg,雌雄不限,购于重庆医科大学动物实验中心。注射用盐酸阿霉素购于浙江海正医药公司,超声诊断仪选用日本 AlokaSSD-5000 彩色多普勒超声诊断仪。

1.2 实验方法

1.2.1 心肌病模型的建立 ADR 以生理盐水稀释为 1mg/ml,经兔耳缘静脉注射,每次 1mg/kg,每周 2 次,连续 8 周。

1.2.2 心功能的超声检测 采用日本 Aloka SSD-5000 超声诊断仪,探头频率 8MHz,由有经验的医师专人、专机操作,分别于用药前及用药结束后 3 周经胸超声测定左心功能。测定时动物经速眠新麻醉(0.2ml/次),仰卧固定于操作台,8%硫化钠脱去胸部毛发,在左室长轴切面的心尖、二尖瓣水平、乳头肌水平取 M 型曲线,连续测三个心动周期的左室舒张末内径(LVEDD)、左室收缩末内径(LVESD)、左室舒张末容积

维普资讯 http://www.cqvip.com

(LVEDV)、左室收缩末容积(LVESV)、左室后壁舒张末厚度(LVPWD)、左室后壁收缩末厚度(LVPWS)。取其平均值经 POMBO 法换算 LVEF(LVFS 计算公式 LVEF=(LVEDV-LVESV)/LVEDV,LVFS=(LVEDD-LVESD)/LVEDD,作为心功能参数指标。

1.2.3 心肌组织学检测 为避免阿霉素急性毒性作用干扰,在末次用药后 3 周随机处死 2 只兔子并取部分心肌作光镜及电镜检测。

1.3 统计学处理

数据以均数±标准差表示,采用 t 检验比较组间各参数差异,以 $P<0.05$ 为差别具有显著性意义。

2 结 果

2.1 一般情况

给药 2 周后动物出现不同程度的饮食下降、活动量减少、兔毛脱落、体重下降、呼吸加快,随着给药剂量的增加,上述症状也逐渐加重,至给药结束 3 周后动物体重平均下降 0.5kg 左右。给药第 1 周后死亡兔子 2 只,第 2~3 周死亡 2 只,第 6~7 周死亡 3 只,给药结束后 3 周内死亡 2 只,总死亡率 34.6%。死亡后尸体解剖发现给药 3 周前死亡动物心脏大体标本无明显改变,推测其死因可能与 ADR 急性毒性作用有关;但 6 周后死亡的动物,则心脏扩大,苍白,并可见少量的心包积液,个别动物有胸腔积液及腹水,推测其死因可能与心力衰竭有关。

2.2 实验动物给 ADR 前后左心结构及功能的超声心动图改变

给 ADR 12 周后,存活的 17 只兔子较给药前均有不同程度的心室扩大,室壁动度减弱(见图 1,图 2),LVEDD、LVESD 升高,LVEF、LVFS 降低,与给药前相比差别有显著意义($P<0.05$),但左室后壁厚度无明显变化。结果见表 1。

2.3 组织形态学观察

苏木素-伊红染色(HE)显示实验动物心肌组织受损,呈心肌病样改变:可见心肌细胞呈广泛的水肿和空泡变性,胞浆中有广泛的颗粒形成,部分肌原纤维溶解,心肌纤维断裂,受累较重的心肌细胞还可呈小灶状或片状坏死,坏死后心肌被纤维组织取代(见图 3)。电镜下心肌细胞内肌原纤维含量减少,线粒体增大增多,嵴断裂,肌浆网扩张(见图 4)。

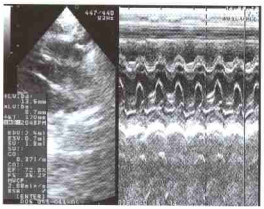


图 1 正常兔超声心动图

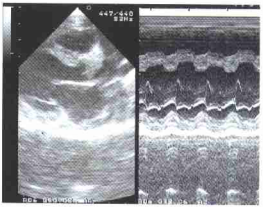


图 2 用 ADR 后兔超声心动图

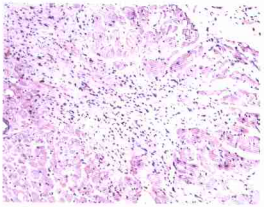


图 3 用 ADR 后兔心肌病理切片(HE×100)

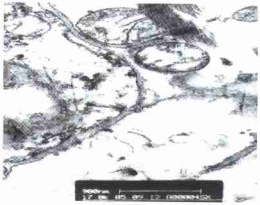


图 4 用 ADR 后兔心肌组织电镜片(×30000)

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1 用 ADR 前后兔心功能各参数比较($\bar{x}\pm s$)

	LVEDD(mm)	LVESD (mm)	LVEF(%)	LVFS(%)	LVPWD(mm)	LVPWS(mm)
基础态(n=26)	13.53 ± 1.56	9.56 ± 1.54	74.49 ± 4.85	37.18 ± 2.76	2.09 ± 0.34	2.98 ± 0.35
用药后(n=17)	16.40 ± 1.76*	12.40 ± 1.18*	60.95 ± 3.46*	30.30 ± 2.75*	2.12 ± 0.47△	3.02 ± 0.31△

* 与基础态比较 $P<0.05$ △与基础态比较 $P>0.05$

3 讨 论

目前文献报道用于建立 DCM 模型的方法主要有三种:病毒感染、右室超速起搏和药物诱导。病毒感染所致的模型与临床相关性好[1],如柯萨奇病毒与心肌炎,DCM 之间有直接的关系。但模型建立所需时间较长,至少得 1 年左右,心肌炎与心肌病界限不易鉴别,而且病毒的使用有很大的潜在危险,故可操作性差。快速心室起搏制备 DCM 动物模型的方法是在对"心动过速性心肌病"的认识基础上摸索,发展而来的[2],当存在持续性心动过速时即可引起严重心功能不全,伴有心室壁变薄,心室腔扩大等。这一系列结构与功能上的病理生理改变与临床上经典的 DCM 十分接近,但其心脏结构和功能的改变在停止起搏后可全部或部分恢复。药物诱导主要有异丙肾上腺素、呋喃唑酮、ADR 几种。异丙肾上腺素造成心肌损伤的机制尚不明确,其模型建立与时间、剂量相关,剂量低,建模时间长,且模型成功率低;剂量高,虽建模时间短,但动物死亡率高达 60%左右[3]。呋喃唑酮主要依靠其对心脏的抑制作用以及降低心肌供血造成 DCM 模型[4],但该模型不能较好反映临床 DCM 的病理生理变化。ADR 是一种有效的蒽环类广谱抗肿瘤化疗药物,它可直接嵌入 DNA 大分子内抑制核酸合成,从而阻止癌细胞分裂增殖。静脉给药后,随血液循环分布于全身各组织器官,在抗肿瘤的同时,对机体正常的组织器官也有较大的损伤作用,尤其与心肌组织的亲和力明显高于其他组织,因此具有严重的心脏毒性,其确切的病因机制尚未明确,但许多证据显示与自由基有关[5]。自由基参与细胞损伤有关的氧化反应,通过其单醌代谢产物产生超氧化阳离子和超氧化自由基,与铁离子共同作用,导致心肌亚细胞结构的各种改变,包括心肌纤维的慢性丢失及心肌细胞胞浆中空泡形成[6]。这一毒副作用提示能否通过静脉使用阿霉素建立心肌病模型。

在大的动物如猪、狗等可采取冠状动脉内灌注 ADR 方式造成心肌病模型[7,8],此途径的优点主要是引起心脏的毒性作用,而全身其它器官的毒性作用较少。但操作复杂,需要特殊的仪器设备。本实验鉴于兔自生特点,采取耳缘静脉注射方式,虽存在骨髓抑制等副作用,但较前述方法而言却简单,可靠,宜行。在静脉注射中注意以下几点有助于提高动物存活率:1.因 ADR 是高渗药物,在注射过程中应避免药物渗漏导致外周组织坏死,必要时可给于小剂量的麻醉药麻醉动物以防止注药过程中动物不合作而引起药物渗漏。2.无菌操作:空针、注射器、生理盐水等避免反复使用。饲养过程中笼具应定期更换,高压消毒。饲养用水为专门的纯净用水。3.在整个注药过程中应密切观察兔子的一般情况:当兔子出现精神食欲明显下降的情况时可暂缓给药。实际上个体对 ADR 的耐受是不一样的,而且 ADR 导致的心肌病理损害远远早于心功能的改变[9]。在本实验中注射两周后死亡的兔子心肌即有间质水肿扩张,肌纤维排列紊乱等改变。

由于 ADR 的毒性作用包括急性作用和慢性作用,其在体内的半衰期为 1~3 天,所以为避免 ADR 的急性毒性作用对各检测指标的影响,应选择停药后 3 周进行心功能的检测,这时候 ADR 在体内已基本消失,但是其造成的心肌损害依然存在。通过病理检查证实心肌细胞有广泛的空泡变性、坏死、纤维化、电镜下心肌细胞内肌原纤维含量减少,线粒体增大增多,嵴断裂,肌浆网扩张,这些改变与临床 DCM 病理改变相似,进一步证明 ADR 的心脏毒副作用可建立扩张型心肌病模型,为扩张型心肌病的进一步研究打下基础。

参 考 文 献

[1] MacArthur CG, Tarin D, Goodwin JF, et al. The relationship of myocarditis to dilated cardiomyopathy[J]. Eur Heart J, 1984; 5(12): 1023-1035.

[2] Prabhu SS, Dalvi BV. Treatable cardiomyopathies [J]. Indian J Pediatr, 2000; 67(4): 279-282.

[3] Teerlink JR, Pfeffer JM, Pfeffer MA. Progressive ventricular remodel-

(下转第 891 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

外,其余患儿均自动复跳。

脑保护 随着心脏麻醉学的发展,术后生存质量日益受到重视,减少脑部并发症变得越来越重要。体外循环婴幼儿脑损伤的机制在于快速降温导致脑区域性血管舒缩不均匀和局部脑血流不足。有研究显示[5],快速降温期是脑损害的重要阶段,而血气管理是降温期脑保护的重要措施。Belling[6]的研究结果发现在新生儿和小婴儿组,PH-STAT 管理的神经系统并发症较少。我院采用浅低温 α-STAT 稳态管理血气,体温低于 28℃时用 PH-STAT 管理;同时监测肛温和鼻咽温,匀速降温、复温;开放主动脉前头低脚高、鼓肺,以减少气栓发生;降温期实施脑局部降温;需深低温停循环或深低温低流量的患儿,给予丙泊酚以加强脑保护。本组 43 例患儿中无 1 例有严重神经系统并发症出现,是否有认知障碍和癫痫等发生还有待进一步随访观察。

综上所述,低体重小儿先天性心脏病矫治术的麻醉处理较困难,死亡率高,有作者报道其死亡率高达 8.3%[7],本组病例死亡率 6.98%,可能与病例的组成有关。

参 考 文 献

[1] 李 欣,高尚志,徐仲凡,等.不同温度下含血停跳液对未成熟心肌保护作用的实验研究[J].中华心胸血管外科杂志,2000;16:38-39.

[2] Allen BS,Barth MJ,Ilbawi MN.Pediatric myocardial protection:an overview [J].Semin Thorac Cardiovasc Surg,2001;13(1):56-72.

[3] Yamamoto F.Do we need hypothermia in myocardial protection [J]. Ann Thorac Cardiovasc Surg,2000;6(4):216-223.

[4] Gaillard D,Bical O,Paumier D,et al.A review of myocardial normothermia:its theoretical basis and the potential clinical benefits in cardiac surgery [J].Cardiovasc Surg,2000;8(3):198-203.

[5] Jonas RA,Lang P.Open repair of cardiac defects in neonates and young infants [J] .Clin perinatol,1988;15:665-677.

[6] Bellinger DC,Wypij D,du Plessis Aj,et al,Developmental and neurologic effects of alpha-stat strategies for deep hypothermic Cardiopulmonary bypass in infants[J]J Thorac Cardiovasc surg,2001;121: 374-383.

[7] 陈 虹,朱德明,王 伟,等.低体重危重先心病婴儿的体外循环方法[J].中国体外循环杂志,2003;1(2):95-97.

(上接第 820 页)

ing in response to diffuse isoproterenol-induced myocardial necrosis in rats[J]. Circ Res,1994;75(1):105-113.

[4] Okafor CC,Saunders L,Li X,et al.Myofibrillar responsiveness to cAMP, PKA,and caffeine in an animal model of heart failure[J].Biochem Biophys Res Commun,2003;300(2):592-299.

[5] Dorr RT.Cytoprotective agents for anthracyclines [J].Semin Oncol, 1996;23(4Suppl8):23-34.

[6] Singal PK,Iliskovic N. Doxorubicin-induced cardiomyopathy [J]. N Engl J Med,1998;339(13):900-905.

[7] Christiansen S,Redmann K,Scheld HH,et al. Adriamycin-induced cardiomyopathy in the dog-an appropriate model for research on partial left ventriculectomy[J]. Heart Lung Transplant,2002;21(7):783-790.

[8] Toyoda Y,Okada M,Kashem MA.A canine model of dilated cardiomyopathy induced by repetitive intracoronary doxorubicin administration[J].J Thorac Cardiovasc Surg,1998;115(6):1367-1373.

[9] Arnolda L,McGrath B,Cocks M,et al. Adriamycin cardiomyopathy in the rabbit:an animal model of low output cardiac failure with activation of vasoconstrictor mechanisms[J].Cardiovasc Res,1985;19(6):378-382.

(上接第 826 页)

in Ws/Ws mutant rats[J]. Gastroenterology, 1995;109(2):456-464.

[6] Young HM. Embryological origin of interstitial cells of Cajal[J]. Micro Res Tech, 1999;47(5):303-308.

[7] Sean MW,Mary FB,Vivienne MJ,et al. Role of PI3-kinase in the development of interstitial cells and pacemaker in murine gastrointestinal smooth muscle[J].Physiol,1999; 516(3):835-846.

[8] Nano M, Battaglia E. Decreased expression of stem cell factor in esophageal and gastric mucosa after esophagogastric anastomosis for cancer: potential relevance to motility [J].Ann Surg Oncol,2003 ;10(7): 801-809.

[9] Horvath VJ, Vittal H, Lorincz A, et al. Reduced stem cell factor links smooth myopathy and loss of interstitial cells of cajal in murine diabetic gastroparesis[J].Gastroenterology,2006; 130(3):759-770.

[10] Soulie ML,Cros G,Serrano JJ,et al. Impairment of contractile response to carbachol and muscarinic receptor coupling in gastric antral smooth muscle cells isolated from diabetic streptozotocin-treated rats and db/db mice[J].Mol Cell Biochem,1992;109(2):185-188.